



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87367** (13) **C2**  
(51) **МПК (2009)**  
**C07C 243/00**  
**A61K 31/15**  
**A61P 31/06 (2009.01)**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

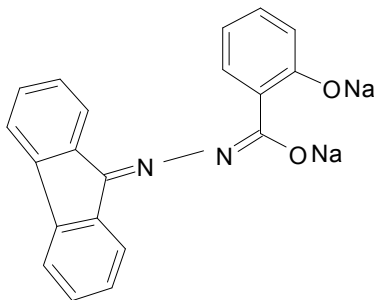
**(54) ДИНАТРИЄВА СІЛЬ N-(9-ФЛУОРЕНІЛІДЕН)-ГІДРАЗІДУ o-ОКСИБЕНЗОАТНОЇ КИСЛОТИ, ЯКА ВИВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ ДІЮ**

1

(21) а200711043  
(22) 05.10.2007  
(24) 10.07.2009  
(46) 10.07.2009, Бюл.№ 13, 2009 р.  
(72) ПЕТРУХ ЛЮБОВ ІВАНІВНА, ПАВЛІЙ РОСТИСЛАВ БОГДАНОВИЧ, ДАНИЛЕЙЧЕНКО ВАЛЕРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, ПАВЛІЙ СВІТЛАНА ЙОСИПІВНА, МИХАЛИК ОЛЯНА ІВАНІВНА, ЗАРГЕРЯН ОЛЬГА ПАВЛІВНА  
(73) ПЕТРУХ ЛЮБОВ ІВАНІВНА  
(56) UA 81084 C2, 25.09.2007  
UA 17859 A, 03.06.2007  
UA 24790 C2, 17.02.2003  
SU 1 517 313 A1, 15.11.1994  
SU 1 541 998 A1, 27.12.1996  
Сибірний А.В. Бактеріостатична дія похідних флуоренілідену на мікобактерії //Мікробіологічний журнал.- 2002.- №1.- С.77-82

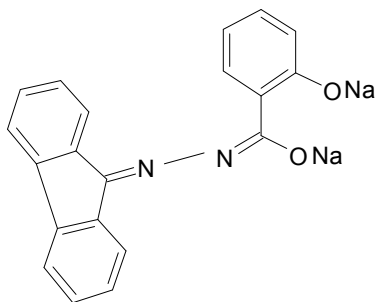
2

**(57)** Динатрієва сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду o-оксибензоатної кислоти формули (I)



, (I)  
яка виявляє протитуберкульозну дію.

Винахід стосується нової хімічної сполуки, а саме динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду o-оксибензоатної кислоти формули 1,



яка виявляє протитуберкульозну дію.

З 1993 р. туберкульоз став Глобальною проблемою людства. У всіх країнах світу зростає захворюваність серед дорослих, дітей і підлітків. За показниками смертності від туберкульозу очевидний вкрай несприятливий розвиток епідемічної ситуації, невпинне прогресування хвороби без будь-якої стабілізації [4].

Пошук нових ефективних речовин протитуберкульозної дії серед різних класів органічних сполук є надзвичайно актуальним.

До найефективніших нових речовин належать аналоги Ізоніазиду, Рифампіцину, а також фторхінолони [3]. На основі флуорену створені нові оригінальні речовини, які за специфічною дією у досліджах in vitro та in vivo перевершують активність Ізоніазиду. Нові флуореніліденгідразиди менш токсичні, пригнічують ріст полірезистентних штамів мікобактерій туберкульозу, виявляють синергічну дію з Рифампіцином [1, 5, 6].

Технічне завдання полягає у розширенні асортименту ефективних субстанцій протитуберкульозної дії з низькою токсичністю для організму.

Поставлену задачу вирішують таким чином, що одержують динатрійну сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду o-оксибензоатної кислоти, яка високоактивна до чутливого й стійкого штамів мікобактерій туберкульозу і має низьку токсичність.

Сполука формули 1 в літературі не описана.

Спосіб синтезу сполуки формули 1 полягає у взаємодії еквімолярних кількостей N-(9-

(13) **C2**

(11) **87367**

(19) **UA**

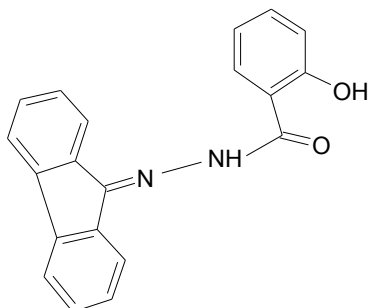
флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти і металічного натрію у диметилформаміді.

Приклад. 3, 14г (0,1 моль) N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти (ТУ 6-09-14-2160-84) у вигляді тонких голок ясно-жовтого кольору розчиняють при 90°C у 0,15л диметилформаміду. До гарячого розчину додають 4,60г (0,2г-атом) дрібно нарізаного натрію металічного і кип'я-тять протягом 2 год. Після чого до гарячого розчину додають при перемішуванні 0,06л толуолу. Із

Знайдено, %: C 67,37  
Вирахувано, %: C 67,04  
C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na<sub>2</sub> M.м. 358,31

УФ-спектри в етанолі 96%, λ макс., нм (Abs): 202,2 (0,498), 252,3 (0,492), 262,3 (0,466).

Найближчим структурним аналогом заявленої нової сполуки є N-(9-флуореніліден)-гідразид о-оксибензоатної кислоти формули 2:



, формула 2

Структурний аналог описаний серед флуореніліденгідразидів заміщеної бензоатної кислоти (3-метокси-, 3-нітро-, 4-нітро-), які виявляють in vitro протитуберкульозну дію щодо *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv. Досліджені флуореніліденгідрази-ди характеризуються дуже цінною здатністю трансформувати мікобактерії туберкульозу в зернисті форми (конгломерати). Цієї здатності не виявляють відомі туберкулостатики Ізоніазид (син. ГІНК) і препарати ряду ГІНК [1].

Ефективність заявленої динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти вивчено in vitro із зависсю культури *Myc. tuber-*

реакційного середовища виділяється дрібнокристалічний продукт червонувато-оранжевого кольору. Суміш кип'яють ще 15хв, після чого осад відфільтровують, промивають толуолом і ефіром, висушують.

Одержують 3,54г (98,7%) динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти у вигляді дрібних кристаликів жовтого кольору, т.пл. >300°C

H 3,51 N 8,06 Na 12,98  
H 3,38 N 7,82 Na 12,83

*culosis hominis* H<sub>37</sub>Rv та мікобактерій, виділених від хворих на туберкульоз легень.

Використано метод серійних розведень на густому середовищі Льовенштейна-Єнсена. У кожну дослідну і контрольні пробірки засівали по 0,2мл суспензії мікобактерій за стандартом оптичної мутності. Через 14 днів інкубації з осаду готували мазки для бактеріоскопічного дослідження. Забарвлення за Ціль-Нільсеном. За результатом бактеріологічних досліджень спостерігали через 15, 30, 60 та 90 діб від моменту посіву матеріалу. Відлік починався з часу, коли в контрольних пробірках (без починався з часу, коли в контрольних пробірках (без антибактерійних препаратів) спостерігався ріст колоній мікобактерій туберкульозу.

За еталон порівняння специфічної протитуберкульозної дії взято найактивніший лікарський засіб - туберкулостатик Ізоніазид.

Встановлено, що заявлена динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти перевищує активність Ізоніазиду. Мінімальна інгібувальна концентрація заявленої нової сполуки щодо *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv становить 0,078мкг/мл.

На 90-й день експерименту росту колоній не було у пробірках із такими досліджуваними сполуками в концентраціях: динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти - 0,625мкг/мл, Ізоніазид - 5мкг/мл (таблиця 1).

Таблиця 1

Бактеріостатична дія динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти та Ізоніазиду на *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv (90-ий день після посівів)

| Сполуки  | Активність щодо <i>Myc. tuberculosis hominis</i> H <sub>37</sub> Rv (розведення речовин / мкг/мл) |      |      |       |       |       |       |
|--|---|------|------|-------|-------|-------|-------|
|  | 5,0   | 2,50 | 1,25 | 0,625 | 0,313 | 0,156 | 0,078 |
| Контроль культури  | +++   | +++  | +++  | +++   | +++   | +++   | +++   |
| Контроль ПЕГ-400   | +++   | +++  | +++  | +++   | +++   | +++   | +++   |
| Ізоніазид  | -   | +    | +    | +     | +     | +     | +     |
| динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти |   |      |      |       | +     | +     | +     |

Примітка: (-) немає росту мікобактерій; (+) наявність поодиноких колоній, (+++) ріст культури.

Вивчено чутливість штамів мікобактерій, виділених від вперше виявлених хворих на туберкульоз легень, до динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти.

Використано чутливий до Ізоніазиду та стійкий до Ізоніазиду штами мікобактерій, які свіжовиділені від хворих. Встановлено ефективну дію заявленої

динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти на штам МБТ, стійкий до Ізоніазиду. При цьому, у разі штаму, стійкого до Ізоніазиду, мінімальна інгібувальна концентрація динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти становить 0,078мкг/мл (таблиця 2).

Таблиця 2

Протитуберкульозна дія динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти на штами мікобактерій туберкульозу, виділені від хворих

| Досліджувані речовини  | Мінімальна інгібувальна концентрація (мкг/мл) |                                 |
|--|---|---------------------------------|
|  | штам МБТ, чутливий до Ізоніазиду              | штам МБТ, стійкий до Ізоніазиду |
| динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти | 0,078   | 0,078                           |
| Ізоніазид  | 0,078   | -                               |

Динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти високоефективна до мікобактерій туберкульозу, резистентних до протитуберкульозного препарату Ізоніазиду, що має важливе практичне й наукове значення.

Гостру токсичність нової сполуки визначено за «Вимогами до вивчення загальнотоксичної дії но-

вих фармакологічних речовин» Державного фармакологічного центру МОЗ України.

ЛД<sub>50</sub> динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду для білих безпородних мишей при внутрішньоочеревинному введенні дорівнює 6000мг/кг маси (таблиця 3).

Таблиця 3

Порівняльні дози ЛД<sub>50</sub> для калію N-(9-флуореніліден)-N'-анісогідрозонату і відомих протитуберкульозних препаратів

| Препарати  | спосіб введення        | ЛД <sub>50</sub> для білих безпородних мишей, мг/кг |
|--|------------------------|---|
| динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти | внутрішньо-очеревинний | 6000  |
| Ізоніазид  | внутрішньо-очеревинний | 195   |

Динатрійна сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти належить до фармакологічних субстанцій високої специфічної дії на мікобактерії туберкульозу і є безпечною для організму.

Динатріюну сіль N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти легко отримувати в умовах фармацевтичного виробництва, - синтез простий, сировина доступна.

У разі впровадження у виробництво, заявлена нова субстанція динатрійної солі N-(9-флуореніліден)-гідразиду о-оксибензоатної кислоти сприятиме розв'язанню складних проблем фтизіатрії, удосконаленню схем лікування і профілактики осіб з групи ризику захворювання на туберкульоз, стабілізації епідемічної ситуації в Україні [2].

Джерела інформації:

1. А.с. SU 1469805 Al C07 109/10, 109/16, A61K 31/175 Флуоренилиденгидразиды замещенной бензойной кислоты, обладающие противотуберкулезным действием / Маслова Л.И., Калмыкова Г.Н., Змияк Н.В., Саядова З.С. - Заявка № 4230091/31-04 от 14.04.87 (непубликуемое).

2. Закон України № 648-V від 08.03.2007. Загальнодержавна програма протидії захворюванню на туберкульоз у 2007-2011рр.

3. Каюкова Л.А., Пралиев К.Д. Основные направления поиска новых противотуберкулезных средств (обзор) / Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т. 34. - № 1. – С. 12-19.

4. Мельник В.М., Новожилова І.О. Особливості змін показників смертності та причин смерті від туберкульозу як складова його сучасного патоморфозу./ Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни. 36. матеріалів конф. - 2007. - Вип.5. - С. 10-15.

5. Петрух Л.І. Актуальність створення і впровадження у промислове виробництво нових лікарських засобів. 36. описів винаходів / За ред. Л.І. Петрух, В.М. Петрух - Львів, ЛьвЦНТЕІ, 2003. - 198 с.

6. Петрух Л.І. Вклад у розвиток української фармацевтичної та медичної науки й практики кафедри фармацевтичної хемії факультету післядипломної освіти ЛНМУ імені Данила Галицького. Історичний нарис. До 50-річчя ФПДО ЛНМУ імені Данила Галицького / За ред. докт. фарм. наук, проф. Петрух Л.І. - Львів, 2005. - 156 с.

